

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001年9月27日 (27.09.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/70667 A1

- (51) 国際特許分類: C07C 211/53, 251/24, 245/08, 309/46, 309/88, 331/28, 275/40, 251/22, 321/28, C07D 213/38, 215/12, 221/10, 213/76, 239/26, A61K 51/04 // C07M 5:00, A61K 100:10, 100:20, 100:02, 100:00, 123:00
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 工藤幸司 (KUDO, Yukitsuka) [JP/JP]; 〒565-0842 大阪府吹田市千里山東1丁目15-11 第1 ヴィラサンテ105 Osaka (JP). 鈴木雅子 (SUZUKI, Masako) [JP/JP]; 〒564-0022 大阪府吹田市末広町19-3 Osaka (JP). 末元隆寛 (SUEMOTO, Takahiro) [JP/JP]; 〒562-0031 大阪府箕面市小野原東1丁目1-55 RAVIR402号室 Osaka (JP). 島津 浩 (SHI-MAZU, Hiroshi) [JP/JP]; 〒566-0024 大阪府摂津市正雀本町2丁目22-1 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/02204
- (22) 国際出願日: 2001年3月21日 (21.03.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2000-80081 2000年3月22日 (22.03.2000) JP
- (74) 代理人: 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.); 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3-7 IMPビル 青山特許事務所 Osaka (JP).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ビーエフ研究所 (BF RESEARCH INSTITUTE, INC.) [JP/JP]; 〒532-8686 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17-85 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL,

[続葉有]

(54) Title: IMAGE DIAGNOSIS PROBE BASED ON SUBSTITUTED AZOBENZENE OR ANALOGUE THEREOF FOR DISEASE ATTRIBUTABLE TO AMYLOID ACCUMULATION AND COMPOSITION FOR IMAGE DIAGNOSIS CONTAINING THE SAME

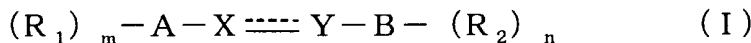
(54) 発明の名称: 置換アゾベンゼンおよび類似化合物による、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブおよびそれを含む画像診断用組成物

(R<sub>1</sub>)<sub>m</sub> - A - X  $\text{---}$  Y - B - (R<sub>2</sub>)<sub>n</sub> (I)

(57) Abstract: A compound represented by the formula (I) or a salt or solvate thereof; and a composition and a kit both containing any of these. In said formula X represents CH, sulfur, or nitrogen; Y represents CH, sulfur, or nitrogen or is absent; (a) means a single bond or a double bond; A and B each independently represents a benzene ring or a six-membered heterocycle containing one or two atoms of nitrogen, oxygen, or sulfur; and R<sup>1</sup> and R<sup>2</sup> represent one to seven substituents of ring A and ring B, respectively.

(57) 要約:

式 1 :



[式中、XはCH、SまたはNであり、YはCH、SまたはNであるか、あるいは不存在であり、 $\text{---}$ は一重結合または二重結合を示し、AおよびBはそれぞれ独立してベンゼン環であるか、あるいは1個または2個のN、OまたはSを含む6員の複素環であり、R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>はそれぞれ環Aおよび環Bに対する1～7個の置換基である] で示される化合物またはその塩もしくは溶媒和物、ならびにこれを含む組成物およびキット。



WO 01/70667 A1



PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,  
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG,  
CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

置換アゾベンゼンおよび類似化合物による、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブおよびそれを含む画像診断用組成物

発明の属する技術分野

本発明は、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブ、詳細には陽電子放出核種により標識されたプローブ、ならびに該プローブを含む画像診断用組成物に関する。

従来技術

アミロイドが蓄積する疾患には、体内の種々の器官や組織への不溶性原線維性蛋白（アミロイド）の沈着を特徴とする種々の疾病があり、アルツハイマー病やダウン症候群等が含まれる。このうち、アルツハイマー病（AD）は現在最も治療の困難な疾病の1つとされており、正確な早期診断が望まれている。

アルツハイマー病は、主として初老期から老年期に起こる進行性の痴呆を特徴とする疾患である。病理学的には大脳の全体的な萎縮、神経細胞の著しい変性と脱落、神経原線維変化と老人斑の出現を特徴とする。アルツハイマー病に代表される痴呆の最大のリスクファクターは加齢であることが知られている。したがって、高齢人口の増加に伴う患者数の増加は、特に、高齢化社会となっている日本、アメリカ、ヨーロッパ諸国において顕著であり、それに対する医療コストはこれらの国の医療システムを危機におとめている。

なお、我が国においてはアルツハイマー病患者数は約100万人と推定され、今後人口の高齢化に伴いその患者数は増大することが確実視されている。アルツハイマー病患者にかかわる費用は介護費用を含めると年間患者1人当たり250万円を超えると考えられていることから、すでに我が国では2兆5千億円を超える社会経済的コストを払っていることになる。アルツハイマー病において痴呆症状が顕在化する以前ないしはできるだけ早期に治療を加えることは、大きな医療経済的効果をもたらすことはいまや世界の常識となっている。しかし現状ではこ

これらの段階のアルツハイマー病を正確に診断することは極めて困難である。

現在のアルツハイマー病診断方法は各種あるが、我が国においては長谷川式、ADAS、MMSE等の、アルツハイマー病が疑われる個体の認知機能の低下を定量的に評価する方法が一般的であり、まれに画像診断法（MRI、CT等）が補助的に用いられている。しかしこれらの診断法では病気を確定するには不十分であり、確定診断には生前における脳の生検（バイオプシー）、死後脳の病理組織学的検査が必要である。このように、アルツハイマー病の診断法についても精力的な研究が行われているにもかかわらず、それほどの進歩がみられないでいる。多くの研究の結果、最初の臨床症状が現れるかなり前（長い場合は約40年前）にはすでにアルツハイマー病特徴的な神経変性が始まっていることが判ってきた。また同病においては患者を取り巻く家族または臨床家が最初の臨床症状に気づいた時には、すでに脳内病理像は取り返しのつかない状態まで進行していることが知られている。上述のような病状の進行特性および患者数の激増を考え合わせると、アルツハイマー病の正確な早期診断の必要性ならびに意義は極めて大きい。

アルツハイマー病の病理組織像は2つの主徴に代表される。すなわち老人斑および神経原線維変化である。前者の主構成成分は $\beta$ シート構造をとったアミロイド $\beta$ 蛋白であり、後者のそれは過剰リン酸化されたタウ蛋白である。アルツハイマー病の確定診断はこれらの病理学的特徴が患者脳内に出現することをよりどころとしている。アルツハイマー病の発症機序におけるアミロイド $\beta$ 蛋白の意義については以下のことがわかっている（柳沢勝彦、井原康夫：神経研究の進歩、第41巻、70-79ページ、1997年、東海林幹男：デメンチア・ジャパン、第11巻、43-50ページ、1997年、玉岡晃：デメンチア・ジャパン、第11巻、51-57ページ、1997年参照）。

1. アミロイド $\beta$ 蛋白（ $A\beta$ ）のびまん性沈着がアルツハイマー病脳における最も早期の神経病理学的変化であるとされていること。
2.  $A\beta$ の前駆体アミロイドプレカーサー蛋白（APP）遺伝子に点突然変異をもつ家族性アルツハイマー病が存在しすること。
3. 2の遺伝子を導入した培養細胞において $A\beta$ の産生異常が認められること。
4. 家族性アルツハイマー病の大半を占めるプレセニリン遺伝子異常において

もA $\beta$ の産生異常が認められること。

5. APPをコードする遺伝子が存在する21番染色体のトリソミーを有するダウン症候群候群脳では早期にアルツハイマー病脳と同様な神経病理学的変化が出現すること。

このように、アミロイド $\beta$ 蛋白はアルツハイマー病を包含するアミロイドが蓄積する疾患に特徴的であり、密接な関連性を有している。したがって、体内、特に脳内で $\beta$ シート構造をとったアミロイド $\beta$ 蛋白をマーカーとして検出することが、アミロイドが蓄積する疾患、特にアルツハイマー病の重要な診断方法の一つとなる。

アルツハイマー病をはじめとするアミロイドが蓄積する疾患の診断を目的として、体内、特に脳内アミロイド $\beta$ 蛋白に特異的に結合し、これを染色する物質の検索が従来から行われている。かかる物質としては、コンゴレッド（パチトラー（Puchtler）ら、ジャーナル・オブ・ヒストケミストリー・アンド・サイトケミストリー、第10巻、35頁、1962年）およびチオフラビンS（パチトラー（Puchtler）ら、ジャーナル・オブ・ヒストケミストリー・アンド・サイトケミストリー、第77巻、431ページ、1983年）、チオフラビンT（レバイン（LeVine）、プロテインサイエンス、2巻、404-410ページ、1993年）ならびにクリサミンGおよびその誘導体（国際特許出願PCT/US96/05918、PCTUS98/07889）等が報告されているにすぎず、それ以外のグループの化合物については報告がない。報告されている化合物は、アミロイド $\beta$ 蛋白に対する結合特異性、血液-脳関門透過性、溶解度、毒性等の面から問題が少なくない。それゆえ、報告されたこれらの化合物は未だアミロイドが蓄積する疾患の診断において実用化されていないのが現状である。

#### 発明が解決しようとする課題

本発明は、上記事情に鑑み、 $\beta$ アミロイド蛋白に対する結合特異性、ならびに血液-脳関門透過性が高く、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブとして使用できる物質であって、従来の物質とは異なるグループの物質を提供するものである。また本発明は、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブとして

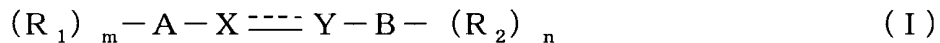
用いられる標識されたかかる物質、ならびにかかるプローブを含む画像診断用組成物も提供する。

#### 課題を解決するための手段

本発明者らは、上記課題を解決すべく、鋭意研究を重ねた結果、式 I に示す化合物またはその塩もしくは溶媒和物が非常に高いβアミロイド蛋白に対する結合特異性、ならびに血液-脳関門透過性を有することを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は

(1) 式 I :



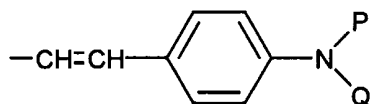
[式中、XはCH、NまたはSであり、

YはCH、NまたはSであるか、あるいは不存在であり、

--- は一重結合または二重結合を示し、

AおよびBはそれぞれ独立して、ベンゼン環、ナフタレン環、アントラセン環またはフェナントレン環から選択される炭素環式の基であるか、あるいはN、O、Sから選択される1個ないし3個の異種原子を含む上記炭素環式の基であり、

R<sub>1</sub>は環Aに対する置換基であり、それぞれのR<sub>1</sub>は独立して水素、ハロゲン、ヒドロキシ、=O、炭素数1~4個のアルキル、-O- (炭素数1~4個のアルキル)、ニトロ、-N=S、アミノ、-O-炭素数1~4個のアルキル、炭素数1~4個のアルキルでモノ-置換されたアミノ、炭素数1~4個のアルキルでジ-置換されたアミノ、-NHCONH<sub>2</sub>、-NHCOCH<sub>2</sub>-ハロゲン、カルボキシル、スルホン酸基、-SO<sub>2</sub>-ハロゲン、-SO<sub>2</sub>-OHまたは

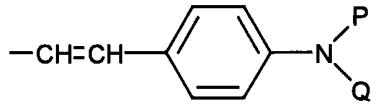


[式中、P、Qは独立して炭素数1~4個のアルキルである]

であり、

R<sub>2</sub>は環Bに対する置換基であり、それぞれのR<sub>2</sub>は独立して水素、ハロゲン、ヒドロキシ、=O、ニトロ、-N=S、アミノ、炭素数1~4個のアルキルでモ

ノ一置換されたアミノ、炭素数 1～4 個のアルキルでジ一置換されたアミノ、カルボキシル、スルホン酸基、または



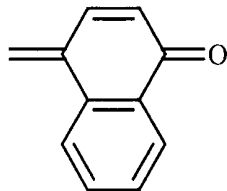
[式中、P、Qは独立して炭素数 1～4 個のアルキルである]

であり、

n は 1～7 のいずれかの整数であり、

m は 1～7 のいずれかの整数であり、

ただし、Y が不存在の場合、 $-B-(R_2)_n$  は



である]

で示される、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブ用化合物またはその塩もしくは溶媒和物、

(2) N-039 : N-[4-(2-{6-[4-(ジメチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-メチルメタナミン、

BF-064 : N-[4-(2-{6-[4-(ジエチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-エチルエタナミン、

SA-215 : 4-(2-ピリジラゾ)-N,N-ジメチルアニリン、

またはそれらの塩もしくは溶媒和物

からなる群より選択される (1) 記載の化合物、

(3) 標識されている (1) または (2) に記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、

(4) 標識が放射性核種である (3) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、

- (5) 置換基 $R_1$ または $R_2$ のいずれかが放射線放出核種で標識されている
- (4) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (6) 環上の水素が放射線放出核種で置換されている (4) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (7) 標識が $\gamma$ 線放出核種である (4) ないし (6) のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (8)  $\gamma$ 線放出核種が $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{201}\text{Tl}$ 、 $^{123}\text{I}$ および $^{133}\text{Xe}$ からなる群より選択される (7) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (9)  $\gamma$ 線放出核種が $^{99m}\text{Tc}$ および $^{123}\text{I}$ からなる群より選択される (7) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (10) 標識が陽電子放出核種である (4) ないし (6) のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (11) 陽電子放出核種が $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ および $^{18}\text{F}$ からなる群より選択される (10) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (12) 陽電子放出核種が $^{18}\text{F}$ である (10) 記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物、
- (13) 上記 (1) ないし (12) のいずれかに記載の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物および医薬上許容される担体を含む、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物、
- (14)  $^{99m}\text{Tc}$ または $^{123}\text{I}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を含む (13) 記載の組成物、
- (15)  $^{18}\text{F}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を含む (13) 記載の組成物、
- (16) 上記 (1) ないし (12) のいずれかに記載の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用キット、



(17)  $^{99m}\text{Tc}$ または $^{123}\text{I}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む(16)記載のキット、

(18)  $^{18}\text{F}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む(16)記載のキット、ならびに

(19) アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物またはキットを製造するための、上記(1)ないし(12)のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物の使用に関するものである。

#### 発明の詳細な説明

本発明のアミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブとして使用される物質は置換アゾベンゼンおよび類似化合物であり、詳細には、上の一般式Iで示される化合物またはその塩もしくは溶媒和物である。

以下、式Iの化合物の各部分および各置換基について説明する。本明細書において、「炭素数1~4個のアルキル」という場合、メチル、エチル、プロピル、ブチル、およびそれらの構造異性体を包含するものとする。

XはCH、NまたはSであり、YはCH、NまたはSであるか、あるいは不存在であり、 $\text{---}$ は一重結合または二重結合を示す。X $\text{---}$ Y部分の具体例としてはN=N、CH=N、N=CH、S-Sが挙げられる。

環Aおよび環Bとして好ましい環はベンゼン環である。

N、O、Sから選択される1個ないし3個の異種原子を含むベンゼン環、ナフタレン環、アントラセン環またはフェナントレン環のうち、好ましいのはベンゼン環およびピリジン環である。

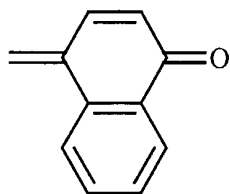
R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>はそれぞれ環Aおよび環Bに対する1個ないし多くとも7個の置換基であり、環に対する置換位置どの位置であってもよいが、オルト位またはパラ位が好ましい。また、環Aまたは環Bが複素環である場合、その異種原子(N、SもしくはO)上に置換基R<sub>1</sub>またはR<sub>2</sub>が存在していてもよい。

$R_1$  または  $R_2$  が炭素数 1～4 個のアルキルである場合、メチル、エチル、プロピルが好ましい。

$R_1$  または  $R_2$  がハロゲンである場合、フッ素、塩素またはヨウ素が好ましい。

炭素数 1～4 個のアルキルでモノ置換されたアミノである  $R_1$  または  $R_2$  の例としてはメチルアミノ基およびエチルアミノ基等が挙げられる。炭素数 1～4 個のアルキルでジ置換されたアミノである  $R_1$  または  $R_2$  の例としてはジメチルアミノ基およびジエチルアミノ基等が挙げられる。 $R_2$  または  $R_6$  が炭素数 1～4 個のアルキルでジ置換されたアミノである場合、その窒素においてオニウムイオンの形態となり、後述するように陰イオンとでオニウム塩が形成されてもよい。さらに、 $R_1$  または  $R_2$  がカルボキシルまたはスルホン酸基である場合には、そのスルホン酸基において塩が形成されてもよい（かかる塩については後述する）。また、式 I の化合物がヒドロキシ基を含む場合（例えば、 $R_1$  または  $R_2$  がヒドロキシ基である場合）、式 I の化合物はこの部分においてケト-エノール互変異性体を生じてもよい。かかる異性体も本発明に包含される。さらにヒドロキシ基の水素が金属（例えば、ナトリウム、カリウム）に置き換わっていてもよい。

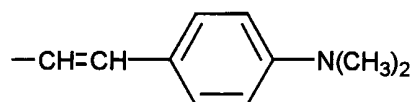
Y が不存在である場合、 $B-(R_2)_n$  は



となるが、このタイプの式 I の化合物の典型例は、表 I に示すインドフェノールブルーおよび 5-(4-ジメチルアミノベンジリデン)ローダミン (SA-447) である。

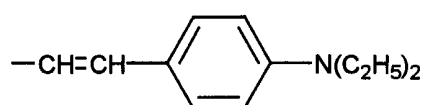
特に好ましい本発明の化合物を以下に説明する。

X=Y が  $CH=CH$  であり、環 A および環 B がピリジン環であり、 $R_1$  および  $R_2$  が



で示される基である化合物が好ましく、かかる化合物の典型例はN-039、すなわちN-[4-(2-{6-[4-(ジメチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-メチルメタナミン(表I参照)である。

X=YがCH=CHであり、環Aおよび環Bがピリジン環であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が



で示される基である化合物が好ましく、かかる化合物の典型例はBF-064、すなわちN-[4-(2-{6-[4-(ジエチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-エチルエタナミン(表I参照)である。

X=YがN=Nであり、Aがベンゼン環、Bがピリジン環であり、R<sub>1</sub>がN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>[m=1]、R<sub>2</sub>がHである化合物も好ましく、この化合物はSA-215、すなわち4-(2-ピリジラゾ)-N,N-ジメチルアニリン(表I参照)である。

式Iの化合物の典型例を表Iとして後で示す。式Iの化合物は種々のイオンとともに塩を形成することができ、これらの塩も本発明に包含される。式Iの化合物中のいずれかの官能基とともに塩が形成されてもよい。例えば、上述のごとく化合物中にカルボキシル基またはスルホン酸基が存在するような場合、これらと金属との間で塩が形成されてもよい。かかる塩の例としては、リチウム、ナトリウム、カリウムのごときアルカリ金属との塩、マグネシウム、カルシウム、バリウムのごときアルカリ土類金属との塩等が挙げられる。また上述のように、式Iの化合物はオニウム塩を形成する場合がある。式Iの化合物とオニウム塩を形成する陰イオンとしては、ハロゲン化物イオン、有機酸イオン、スルホン酸イオン等の陰イオンが挙げられる。かかるオニウム塩も本発明に包含される。さらに、式Iの化合物と金属塩とで形成される錯体(例えば塩化マグネシウム、塩化鉄のごとき金属塩とで形成される錯体)も本明細書においては式Iの化合物の塩に含めることとする。本発明化合物を本発明組成物またはキットに使用する場合、医

薬上許容される塩であることが好ましい。式 I の化合物の医薬上許容される塩としては、例えば、塩素、臭素、ヨウ素のごときハロゲン化物イオンとのオニウム塩の形態となる場合のほかに、ナトリウム、カリウム、カルシウムのごとき金属との塩、さらには塩化鉄、塩化コバルトのごとき金属塩とで形成される錯体等が挙げられる。また、式 I の化合物の溶媒和物も本発明に包含される。溶媒和物としては、水和物、メタノール和物、エタノール和物、アンモニア和物等が挙げられる。本発明組成物またはキットに使用する場合、やはり医薬上許容されるものが好ましく、医薬上許容される溶媒和物としては、水和物、エタノール和物等が挙げられる。本明細書において、「本発明化合物」という場合、式 I の化合物、ならびにその塩および溶媒和物を包含するものとする。

本発明においては、アミロイドが蓄積する疾患における体内のアミロイド、詳細には $\beta$ アミロイド蛋白にインビボにおいて特異的に結合する式 I の化合物またはその塩もしくは溶媒和物をアミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブとして使用する。本明細書における「アミロイドが蓄積する疾患」とは、上述のごとくアミロイド蛋白、詳細には $\beta$ アミロイド蛋白の体内における沈着を特徴とし、これをマーカーとして診断可能な疾病をいい、アルツハイマー病、ダウン症候群等が挙げられる。

アミロイドが蓄積する疾患の診断においては本発明化合物を標識したものをプローブとして使用するのが一般的である。標識には、蛍光物質、アフィニティー物質、酵素基質、放射性核種等がある。アミロイドが蓄積する疾患の画像診断には通常、放射性核種で標識したプローブを使用する。当該分野においてよく知られた方法により種々の放射性核種で本発明化合物を標識することができる。例えば、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{131}\text{I}$ 等は以前から使用されている放射性核種であり、インビトロでの利用例が多い。画像診断プローブおよびその検出手段に求められる一般的要件としては、インビボで診断できること、患者へのダメージが少ないこと（特に非侵襲的であること）、検出感度が高いこと、半減期が適当な長さであること（標識プローブ調製時間、診断時間が適当であること）等が挙げられる。そこで、最近では、高い検出感度と物質透過性を示す $\gamma$ 線を利用した陽電子断層撮影法（PET）または $\gamma$ 線放出核種によるコンピューター断層撮影法（SPE

CT) が用いられるようになってきた。このうち、PETは、陽電子放出核種から正反対の方向に放射される2本の $\gamma$ 線を1対の検出器により同時計数法により検出するので、解像力や定量性に優れた情報が得られるので好ましい。SPECT用には $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{201}\text{Tl}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{133}\text{Xe}$ 等の $\gamma$ 線放出核種で本発明化合物を標識することができる。 $^{99m}\text{Tc}$ および $^{123}\text{I}$ がSPECTによく用いられている。PET用には $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 等の陽電子放出核種で本発明化合物を標識することができる。陽電子放出核種のなかでも、半減期が適当であること等から $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ が好ましく、 $^{18}\text{F}$ が特に好ましい。陽電子放出核種、 $\gamma$ 線放出核種等の放射線放出核種での本発明化合物の標識位置は、式I中のいずれの位置であってもよい。例えば、式Iの化合物の置換基 $R_1$ または $R_2$ を陽電子放出核種、 $\gamma$ 線放出核種等の放射線放出核種で標識してもよく、あるいは式Iの化合物の環上の水素を陽電子放出核種、 $\gamma$ 線放出核種等の放射線放出核種で置換してもよい。さらに式Iの化合物のXまたはYが放射性核種であってもよい。かかる標識された式Iの化合物も本発明に包含される。例えば、本発明化合物を $^{18}\text{F}$ で標識する場合、置換基 $R_1$ または $R_2$ を $^{18}\text{F}$ で標識してもよく、あるいは式Iの化合物の環上の水素を $^{18}\text{F}$ で置換してもよい。例えば、環Aまたは環Bの置換基 $R_1$ または $R_2$ のいずれかに含まれる水素を $^{18}\text{F}$ で置換してもよい。 $^{18}\text{F}$ をはじめとする放射線放出核種にて標識するのに適した本発明化合物としては上記N-039、BF-064およびSA-215等が挙げられるが、これらに限らない。一般的には、これらの核種はサイクロトロンまたはジェネレーターと呼ばれる装置により產生される。当業者は、產生核種に応じた產生方法および装置が選択可能である。そのようにして產生された核種を用いて本発明化合物を標識することができる。

これらの放射性核種で標識された標識化合物の製造方法は当該分野においてよく知られている。代表的な方法としては、化学合成法、同位体交換法および生合成法がある。化学合成法は従来から広く用いられており、放射性の出発物質を用いること以外は通常の化学合成法と本質的に変わらない。この方法により種々の核種が化合物に導入されている。同位体交換法は、簡単な構造の化合物中の $^3\text{H}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{125}\text{I}$ 等を複雑な構造の化合物中に移して、これらの核種で標識された複

雑な構造の化合物を得る方法である。生合成法は $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 等で標識した化合物を微生物等の細胞に与えてこれらの核種が導入された代謝産物を得る方法である。

標識位置については、通常の合成と同様に合成スキームを目的に応じて設計することにより、所望位置に標識を導入することができる。かかる設計は当業者によく知られている。

また、例えば、比較的半減期の短い $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 等の陽電子放出核種を用いる場合、病院等の施設内の設置された（超）小型サイクロトロンから所望核種を得て、上記の方法により所望化合物を所望位置で標識して、即座に診断、検査、治療等に使用することも可能となっている。

これらの当業者に公知の方法により、本発明化合物の所望位置に所望核種を導入して標識することができる。

本発明標識化合物の対象への投与は局所的であってもよく、あるいは全身的であってもよい。投与経路としては、皮内、腹腔内、静脈、動脈、または脊髄液への注射または輸液等があるが、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の状態、検査部位等の要因により選択できる。本発明プローブを投与して、 $\beta$ アミロイド蛋白への結合および崩壊のための十分な時間経過後、PET、SPECT等の手段で検査部位を調べることができる。これらの手段は、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の状態、検査部位等の要因に応じて適宜選択できる。

放射性核種で標識された本発明化合物の用量は、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の年齢、身体的状態、性別、疾病の程度、検査部位等により様々である。特に、対象の被曝量については十分に注意する必要がある。例えば、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ のごとき陽電子放出核種により標識された本発明化合物の放射エネルギーは、通常には、3.7メガベクレルないし3.7ギガベクレル、好ましくは、18メガベクレルないし740メガベクレルの範囲である。

また本発明は、本発明化合物を含むアミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物を提供する。本発明組成物は、本発明化合物および医薬上許容される担体を含む。組成物中の本発明化合物は標識されていることが好ましい。上記のごとき標識法は様々であるが、インビボでの画像診断用途には放射性核種（特に $^{11}\text{C}$ 、

$^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ のごとき陽電子放出核種)で標識されていることが望ましい。本発明組成物の形態は、その目的からすれば注射あるいは輸液可能な形態であることが好ましい。したがって、医薬上許容される担体は液体であるものが好ましく、リン酸カリウム緩衝液、生理食塩水、リンゲル液、蒸留水等のごとき水性溶媒、あるいはポリエチレングリコール、植物性油脂、エタノール、グリセリン、ジメチルスルホキサイド、プロピレングリコール等のごとき非水性溶媒があるが、これらに限らない。担体と本発明化合物との配合比率は、適用部位、検出手段等に応じて適宜選択できるが、通常には10万対1ないし2対1の比率であり、好ましくは1万対1ないし10対1の比率である。また、本発明組成物はさらに公知の抗菌剤(例えば、抗生剤等)、局所麻酔剤(例えば、塩酸プロカイン、塩酸ジブカイン等)、バッファー(例えば、トリス-塩酸バッファー、ヘペスバッファー等)、浸透圧調節剤(例えば、グルコース、ソルビトール、塩化ナトリウム等)等を含含有していてもよい。

さらに本発明は、本発明化合物を必須の構成成分として含むアミロイドが蓄積する疾患の画像診断用キットを提供する。通常には、キットは、本発明化合物、それを溶解する溶剤、バッファー、浸透圧調節剤、抗菌剤、局所麻酔剤等の各成分を別個に、あるいはいくつかを一緒にしてそれぞれの容器に入れたものをひとまとめにしたものである。本発明化合物は未標識であっても、標識されていてもよい。未標識の場合、上で説明したような通常の方法により、使用前に本発明化合物を標識することができる。また本発明化合物は凍結乾燥粉末等の固形として提供してもよく、あるいは適当な溶媒中に溶解して提供してもよい。溶剤としては上述の本発明組成物に用いる担体と同様のものであってよい。また、バッファー、浸透圧調節剤、抗菌剤、局所麻酔剤等の各成分も上述の本発明組成物に使用するものと同様のものであってよい。容器は種々のものを適宜選択できるが、本発明化合物への標識導入操作に適した形状とすることもでき、化合物の性質に応じて遮光性の材質のものとしてもよく、あるいは患者への投与に便利のようにバイアル、または注射器等の形状とすることもできる。また、キットは診断に必要な器具類、例えば注射器、輸液セット、あるいはPET装置に使用する器具類等を適宜含んでいてもよい。通常、キットには説明書を添付する。

さらに、本発明化合物がアミロイドβ蛋白に特異的に結合することから、本発明化合物を未標識のまま、あるいは標識して、インビトロでのアミロイドβ蛋白の検出、定量等に使用することもできる。例えば、顕微鏡標本のアミロイドβ蛋白染色、試料中のアミロイドβ蛋白の比色定量、あるいはシンチレーションカウンターを用いたアミロイドβ蛋白の定量等に本発明化合物を使用してもよい。

次に、本発明化合物のスクリーニング方法について説明する。

(1) βシート構造をとったアミロイドβ蛋白の定量方法—被験化合物のβ構造認識度の測定方法

βシート構造をとったアミロイドβ蛋白を試験管内で定量化する方法はすでいくつか報告されているが、本発明においてはLeVineの方法（プロテインサイエンス、2巻、404-410ページ、1993年）およびWoodsらの方法（ジャーナル・オブ・モレキュラー・バイオロジー、256巻、870-877ページ1996年）を参考に、これらを改変して試験に供した。すなわち、アミロイドβ蛋白（ペプチド研究所より購入）をリン酸カリウム緩衝液（pH7.4）に溶解し、37℃で4日間放置した。同緩衝液に溶解した被験化合物（最終濃度1マイクロモル）を96穴マイクロプレートに50マイクロリットルずつ分注した後、4日間放置したアミロイドβ蛋白溶液を50マイクロリットルずつ添加した。次いでグリシン-NaOH緩衝液（pH8.5）に溶解したチオフラビンT（アミロイドβ蛋白のβ構造の程度に依存して蛍光を発する）を100マイクロリットルずつ添加し（最終濃度3マイクロモル）、直ちに蛍光マイクロプレートリーダー（モレキュラーデバイス社製、fmax型）で励起波長442ナノメートル、測定波長485ナノメートルで蛍光度を測定した。チオフラビン単独の蛍光度をA、アミロイドβ蛋白とチオフラビンT共存下のそれをB、アミロイドβ蛋白とチオフラビンTと被験化合物共存下のそれをCとすると、各被験化合物のβ構造認識度は以下の式で算出した（特記しないかぎり、被験化合物濃度は1マイクロモルとした）。

$$\text{被験化合物 } \beta \text{ 構造認識度 (\%)} = \{ (B - C) / (B - A) \} \times 100$$



この $\beta$ 構造認識度が大きいほど、被験化合物はアミロイド $\beta$ 蛋白に対する結合特異性が高いといえる。

## (2) インスリンの $\beta$ 構造認識度測定方法

ヒト生体内にはインスリン、アミリン等、アミロイド $\beta$ 蛋白以外に $\beta$ シート構造をとる蛋白が存在することが知られている (Burketら、バイオケミストリー、第11巻、2435-2439ページ、1972年。Ashburnら、ケミストリー・アンド・バイオロジー、第3巻、351-358ページ、1996年)。アミロイド蛋白を認識することによりアルツハイマー病をはじめとするアミロイドが蓄積する疾患を診断するプローブは、アミロイド $\beta$ 蛋白に対してより親和性が高く、それ以外の $\beta$ シート構造をとる蛋白にはより親和性が低いことが望ましい。そこで $\beta$ 構造をとったインスリンに対する各化合物の親和性を測定した。

インスリンの $\beta$ シート構造を試験管内で定量する方法は、Klunkらの報告 (ジャーナル・オブ・ヒストケミストリー・アンド・サイトケミストリー、第37巻、1273-1281ページ、1989年)を参考に、これに若干の改変を加えて試験に供した。すなわち、インスリン(シグマ社より購入)を脱イオン水で溶解し、塩酸でpH2に調整した後、92°Cで10分間加熱後、ドライアイス/エタノール冷却槽で冷却した。その後92°Cで3分間の加熱およびドライアイス/エタノール冷却槽での冷却を7、8回繰り返した。これをさらにリン酸緩衝液 (pH7.4)で0.1mg/mlに希釈し、96穴マイクロプレートに50マイクロリットルずつ分注した。脱イオン水で溶解した被験化合物を50マイクロリットルずつ分注した後、グリシン-NaOH緩衝液 (pH8.5)に溶解したチオフラビンT( $\beta$ 構造の程度に依存して蛍光を発する)を100マイクロリットルずつ分注し、蛍光マイクロプレートリーダー (モレキュラーデバイス社製、fmax型)で励起波長442ナノメートル、測定波長485ナノメートルで蛍光度を測定した。チオフラビンT単独の蛍光度をD、インスリンとチオフラビンT共存下のそれをE、インスリンとチオフラビンTと被験化合物共存下のそれをFとすると、各被験化合物のインスリン $\beta$ 構造認識度は以下の式で算出した。

$$\text{被験化合物のインスリン}\beta\text{構造認識度 (\%)} = \{(E - F) / (E - D)\} \times 100$$

この数値をもとに BSAS (バイオロジカル スタテスチカル アナリシス システム) 統計プログラムを用いて、各被験化合物のインスリンβシート構造を認識する50%有効濃度(EC<sub>50</sub>)を求めた。

### (3) 被験化合物の分配係数測定方法

化合物の水と脂質との分配係数はその化合物の血液-脳関門透過性の指標になることが知られている(ベグレイ、ジャーナル・オブ・ファーマシー・アンド・ファーマコロジー第48巻、136-146ページ、1996年、およびブッチワルドおよびボダー、カレント・メディシナル・ケミストリー、第5巻、353-380ページ、1998年)。

そこで、水/1-オクタノール分配係数を測定することにより血液-脳関門透過性の指標とした。

油相には1-オクタノール、水相にはリン酸緩衝液(pH7.3)または超純水を用いた。被験化合物の適当量を油相または水相に溶解し、両相を同一試験管内に入れ、室温で30分間はげしく振盪した。室温で1時間以上静置した後、2000回転で10分間遠心分離し、さらに1時間室温に静置した。水相および油相をそれぞれサンプリングし、これを96穴マイクロプレートに移した。マイクロプレートリーダー(モレキュラーデバイス社製、スペクトラマックス250型)を用いて、それぞれの被験化合物の最大吸収波長で吸光度を測定し、あらかじめ求めておいた検量線から被験化合物の濃度を算出した。分配係数は以下の式で算出した。

被験化合物の分配係数 = 油相の被験化合物の濃度 / 水油相の被験化合物の濃度

この分配係数が大きいほど、被験化合物の血液-脳関門透過性が高いといえる。

### (4) 有用係数の算出

β構造認識度(被験化合物のアミロイドβ蛋白への結合特異性)、と分配係数(被験化合物の血液-脳関門透過性)との積を有用係数と定義すると、この係数は実際にヒトに被験化合物を投与した際、被験化合物が血液-脳関門を透過し、

脳内アミロイドβ蛋白にどれだけ結合するかの指標となると考えられる。

各被験化合物の有用係数を以下の式により計算した。

被験化合物の有用係数＝被験化合物のβ構造認識度 × 被験化合物の分配係数

この有用係数が大きいほど、被験化合物はアミロイドが蓄積する疾患の診断プローブとして適当であるといえる。

#### (5) 急性毒性試験

本発明化合物の急性毒性をマウスを用いて静脈内投与で検討した。5週齢のCrlj:CD1系雄性マウスを1群4匹として使用した(各群の平均体重30～31g)。各化合物は生理的食塩水(大塚製薬株式会社)に溶解し、尾静脈を介して100mg/kgの単回静脈内投与を行い、7日後まで観察した。

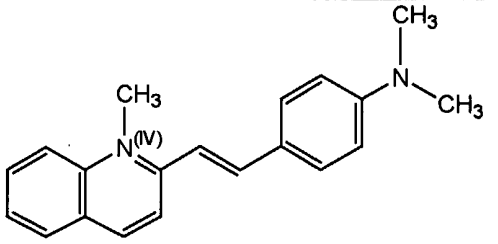
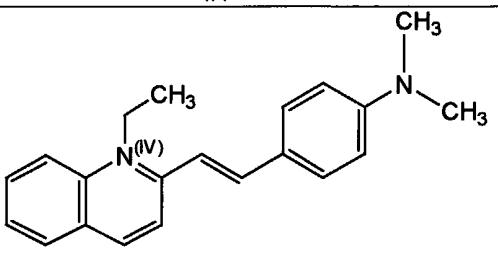
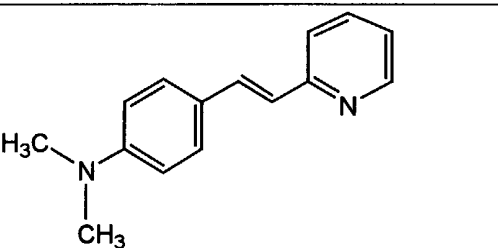
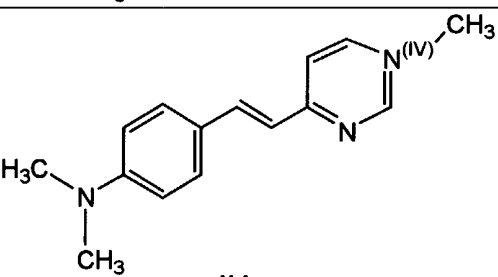
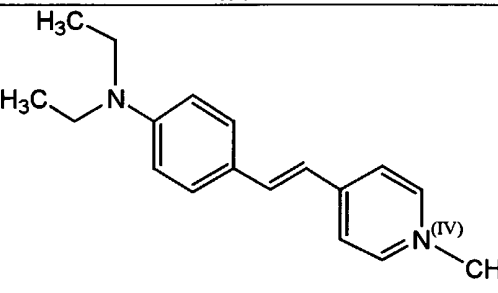
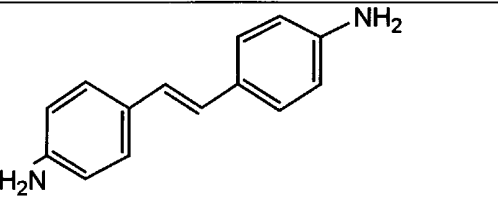
#### 実施例

以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらの実施例は本発明を何ら限定するものではない。

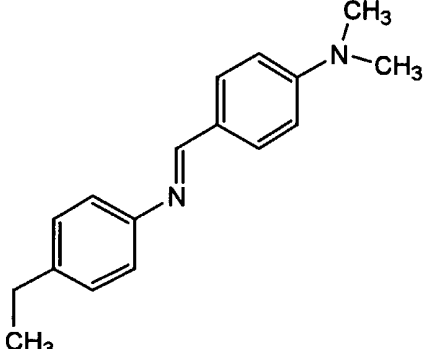
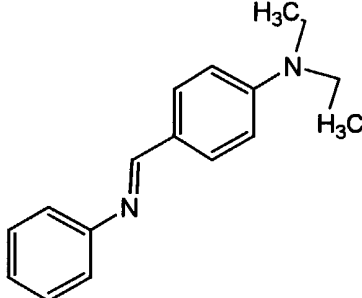
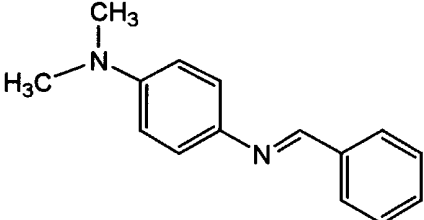
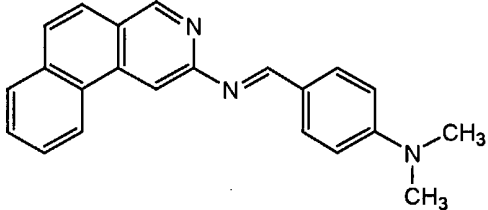
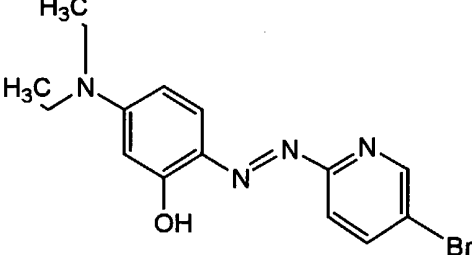
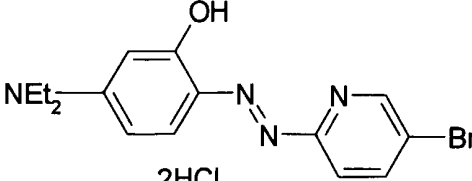
本発明化合物の典型例として、下表Iに示す化合物につき、上記(1)に記載した測定方法によりβ構造認識度を測定した。化合物N-039については上記(4)に記載の方法により分配係数を測定し、有用係数を算出した。特に説明しない限り、これらの化合物は市販の特級品または注文による合成品(純度98%以上)である。結果を表Iに示す。表I中の数値は測定を2回行った平均値である。対照として、従来よりアミロイドβ蛋白への結合が知られている化合物(コンゴーレッド、クリサミンGおよびその2Na塩、化合物X34(1,4-ビス[2-(3-カルボキシ-4-ヒドロキシフェニル)エチン-イル]-ベンゼン、タナベR&Dサービスにて合成にて合成)およびその2Na塩(タナベR&Dサービスにより合成))についての同一条件での測定結果も併せて表Iに示す。表I中の構造式はその化合物の存在形態の一例を示すものである。表中の空欄は測定していないことを示す。

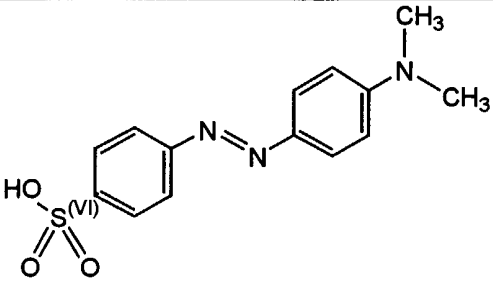
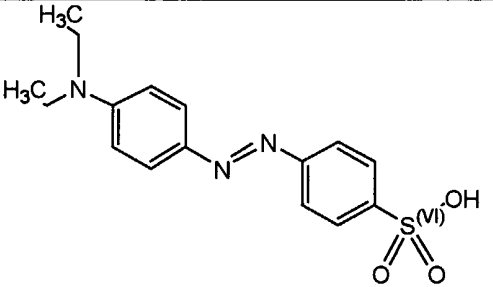
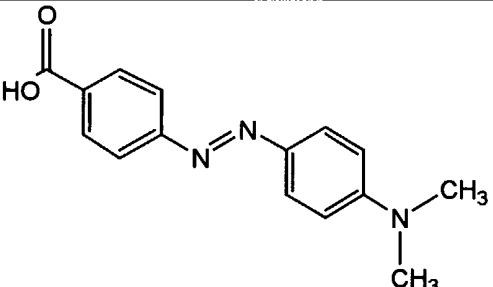
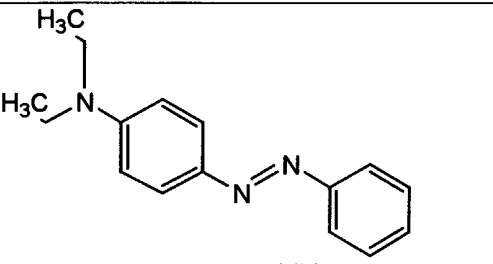
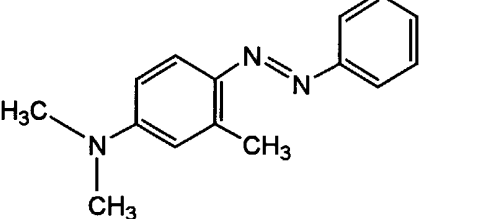
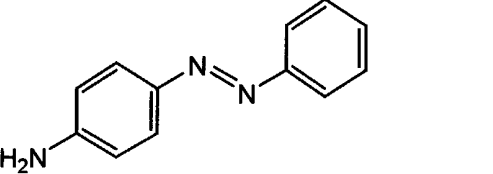
表 I

化合物	$\beta$ 構造 認識度 (%)	分配 係数	有用 係数	構造式
N-039	97.7	35	3420	<p style="text-align: center;">I</p>
N-[4-(2{6-[4-ジエチルアミノ]スチリル}-1-メチルピリジニウム-2-イル)ピニル-フェニル]-N-エチルエタナミン ヨードイ BF-064	78.5	87	6830	<p style="text-align: center;">I</p>
2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)-1-エチルピリジニウムヨードイ SA-212	46.0			<p style="text-align: center;">IH</p>
2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)-1-メチルピリジニウムヨードイ SA-213	50.7			<p style="text-align: center;">IH</p>
2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)キノリン SA-770	25.4			

2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)-1-メチルキノリニウムヨード イ SA-245	86.9	10	869	 <p style="text-align: center;">IH</p>
キナルジンをレット SA-169	91.9	18	1654	 <p style="text-align: center;">IH</p>
2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)ピリジニ SA-271	53.0			
2-(4-(ジメチルアミノ)スチリル)-1-メチルピリジニウムヨ ードイ SA-247	19.5			 <p style="text-align: center;">IH</p>
4-(4-(ジエチルアミノ)スチリル)-1-メチルピリジニウムヨ ードイ SA-445	71.2			 <p style="text-align: center;">IH</p>
4,4'-ジアミノスチ ルベン(二塩酸 塩) SA-324	36.0			 <p style="text-align: center;">ClH</p>

N-058	93.6			
BF-021 (N-058 塩酸 塩)	70.8	30	2124	
N-(4-(ジメチルア ミノ)ベンジリデン) -p-フェチネシン SA-399	23.1			
BF-034 (SA-399 塩酸 塩)	19.7			
BF-033	7.6			
N-(4-(ジメチルア ミノ)ベンジリデ ン)-4-フルオロアニ リン SA-407	6.8			
BF-035 (SA-407 塩酸 塩)	5.6			

N-(4-(ジメチルアミノ)ベンジリデン)-4-エチルアニリン SA-408	7.9			
N-(4-(ジエチルアミノ)ベンジリデン)アニリン SA-757	33.9			
N-ベンジリデン-N',N'-ジメチルベンゼン-1,4-ジアミン SA-758	46.5			
ベンゾ(F)イソキノリン-2-YL-(4-ジメチルアミノ-ベンジリデン)-アミン SA-672	39.3			
2-(5-プロモ-2-ピリジラゾ)-5-(ジエチルアミノ)フェノール SA-147	87.2			
BF-020 (SA-147 塩酸塩)	84.4			

メチルオレンジ SA-125	62.2	1	62.2	 <p>NaH</p>
エチルオレンジナト リウム塩 SA-163	30.7			 <p>NaH</p>
D5895 SA-606	53.5			 <p>NaH</p>
4-(ジエチルアミノ) アゾベンゼン SA-134	65.4			
4-ジメチルアミノ- 2-メチルアゾベン ゼン SA-135	42.8			
4-フェニルアゾアニ リン 塩酸塩 SA-138	35.9			 <p>ClH</p>



4-フェニルアゾアニリン SA-148	28.0			
デイスパースオレンジ3 SA-180	58.0			
N-(4-ジメチルアミノアゾベンゼン-4')ヨードアセトアミド SA-446	52.4			
4-(ジメチルアミノ)アゾベンゼン-4'-スルホニルクロライド SA-188	62.7			
ファットブラウンRR SA-201	73.0			
4-(2-ピリジラゾ)-N,N-ジメチルアニリン SA-215	69.1	>100	>6910	
4-((4-イソチオシアナトフェニル)アゾ)-N,N-ジメチルアニリン SA-239	83.3			

N,N-ジメチル- 4,4'-アゾジアニ ン SA-512	68.2			
4,4'-ジアミノ-5-メ トキシ-2-メチルアゾ ベンゼン SA-419	38.4			
4-(ジエチルアミ ノ)-4'-(ジメチルア ミノ)-2-(ウレイト)ア ゾベンゼン SA-420	71.6			
BF-055 (SA-420 塩酸 塩)	85.0			
デイスパースフラッ ク7 SA-376	35.7			
イントフェノールブ ルー SA-244	96.9			
BF-022 (SA-244 塩酸 塩)	27.8			
4-アミノフェニルジ スルフイト SA-260	83.1			

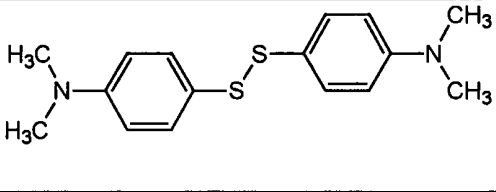
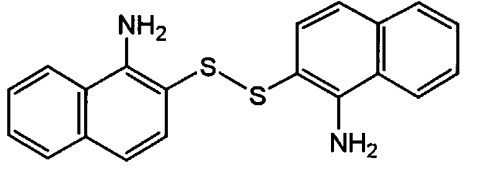
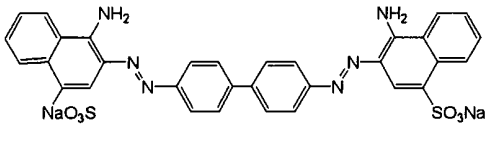
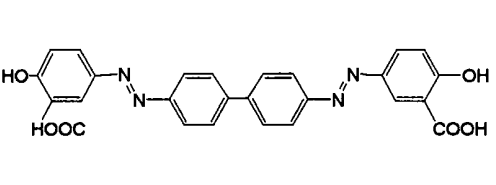
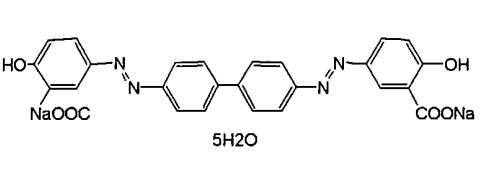
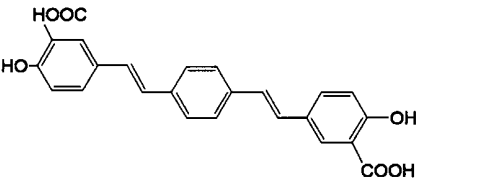
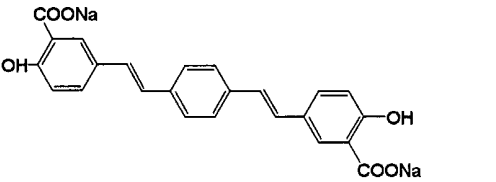
N-200	21.6			
2,2'-ジチオビス (1-ナフチルアミン) SA-366	43.3			
コンゴールレッド'	89.3	0.74	66	
クリサミンG	66.8	9.7 (pH 5)	649	
クリサミン G- 2Na·5H2O	84.5	2.7	228	
X34	73.9	3.4	251	
X34·2Na	74.0	2.7	200	

表 I に示すように、従来報告されていた化合物とは異なるグループに属する本発明化合物は  $\beta$  構造を認識することがわかる。本発明化合物の  $\beta$  構造認識度は対照化合物と同じオーダーであった。この中で、N-039、BF-064、SA-245 (ジメチルアミノスチリル) - 1-メチルキノリニウムヨード)、SA-169 (キナルジンレッド)、N-058 (5-(ジエチルアミノ)-2-((4-(ジエチルアミノ)フェニル)イミノ)メチル)フェノール)、S

A-147 (2-(5-ブロモ-2-ピリジラゾ)-5-(ジエチルアミノ)フェノール)、SA-239 (4-(4-イソチオシアナトフェニル)アゾ)-N,N-ジメチルアニリン)、SA-420 (4-(ジエチルアミノ)-4'-(ジメチルアミノ)-2-(ウレイド)アゾベンゼンの塩酸塩)、SA-244 (インドフェノールブルー)、SA-260 (4-アミノフェニルジスルフィド)は $\beta$ 構造認識度が高い。またSA-215の $\beta$ 構造認識度の比較的高い。本発明化合物は分配係数が対照化合物よりも高い傾向を示し、SA-215の分配係数が極めて高く、N-039、BF-064、BF-021の分配係数も高い。したがって、これらの化合物の有用係数は対照化合物と比べて1~2オーダーまたはそれ以上高い。特に有用係数の高い本発明化合物は、SA-215、BF-064およびN-039であり、それぞれ6910以上、6830および3420である。また、SA-169、BF-021およびSA-245の有用係数も高い。これらの結果より、本発明化合物はアミロイド $\beta$ 蛋白に特異的に結合でき、しかも血液-脳関門透過性が極めて高く、アミロイドが蓄積する疾患の診断プローブとして利用価値が極めて高いといえる。

さらにN-039、N-058、SA-147、SA-244、SA-239のインスリン $\beta$ 構造認識度を上記(2)の方法により測定した結果を表I Iに示す。対照としてコンゴレッドおよびクリサミンGも同等に測定した。測定は2回行い、表I Iには平均値を示す。これらの化合物のインスリン $\beta$ 構造認識度は、SA-147を除き対照のコンゴレッドおよびクリサミンGと同程度であった(化合物については表I参照)。

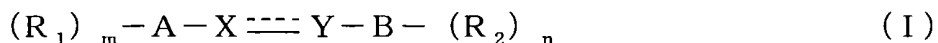
表 I I

化合物	インスリンの $\beta$ シート構造認識度 EC <sub>50</sub> (マイクロM)
N-039	0.113
N-058	0.129
SA-147	0.038
SA-244	0.449
SA-239	0.120
コンゴレッド	0.153
クリサミン G	0.253

以上説明したように、本発明によれば、従来の化合物とは異なるグループに属し、アミロイド $\beta$ 蛋白に対する結合特異性が高く、血液-脳関門透過性が高い、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブ用化合物、ならびにそれを含むアミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物およびキットが提供される。かかる化合物、組成物、またはキットを用いることにより、疾病の早期における正確な診断が可能となる。

## 請求の範囲

1. 式I :



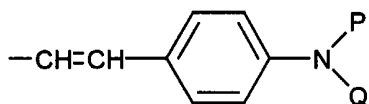
[式中、XはCH、NまたはSであり、

YはCH、NまたはSであるか、あるいは不存在であり、

---は一重結合または二重結合を示し、

AおよびBはそれぞれ独立して、ベンゼン環、ナフタレン環、アントラセン環またはフェナントレン環から選択される炭素環式の基であるか、あるいはN、O、Sから選択される1個ないし3個の異種原子を含む上記炭素環式の基であり、

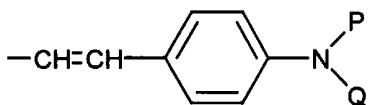
R<sub>1</sub>は環Aに対する置換基であり、それぞれのR<sub>1</sub>は独立して水素、ハロゲン、ヒドロキシ、=O、炭素数1~4個のアルキル、-O- (炭素数1~4個のアルキル)、ニトロ、-N=S、アミノ、-O-炭素数1~4個のアルキル、炭素数1~4個のアルキルでモノ置換されたアミノ、炭素数1~4個のアルキルでジ置換されたアミノ、-NHCONH<sub>2</sub>、-NHCOCH<sub>2</sub>-ハロゲン、カルボキシル、スルホン酸基、-SO<sub>2</sub>-ハロゲン、-SO<sub>2</sub>-OHまたは



[式中、P、Qは独立して炭素数1~4個のアルキルである]

であり、

R<sub>2</sub>は環Bに対する置換基であり、それぞれのR<sub>2</sub>は独立して水素、ハロゲン、ヒドロキシ、=O、ニトロ、-N=S、アミノ、炭素数1~4個のアルキルでモノ置換されたアミノ、炭素数1~4個のアルキルでジ置換されたアミノ、カルボキシル、スルホン酸基、または



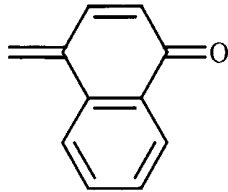
[式中、P、Qは独立して炭素数1~4個のアルキルである]

であり、

nは1～7のいずれかの整数であり、

mは1～7のいずれかの整数であり、

ただし、Yが不存在の場合、 $-B-(R_2)_n$ は



である]

で示される、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断プローブ用化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

2. N-039 : N-[4-(2-{6-[4-(ジメチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-メチルメタナミン、

BF-064 : N-[4-(2-{6-[4-(ジエチルアミノ)ストイリル]-1-メチルピリジニウム-2-イル}ビニル)フェニル]-N-エチルエタナミン、

SA-215 : 4-(2-ピリジラゾ)-N,N-ジメチルアニリン、  
またはそれらの塩もしくは溶媒和物

からなる群より選択される請求項1記載の化合物。

3. 標識されている請求項1または2に記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

4. 標識が放射性核種である請求項3記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

5. 置換基 $R_1$ または $R_2$ のいずれかが放射線放出核種で標識されている請求項4記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

6. 環上の水素が放射線放出核種で置換されている請求項4記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

7. 標識が $\gamma$ 線放出核種である請求項4ないし6のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

8.  $\gamma$ 線放出核種が $^{99m}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{201}\text{Tl}$ 、 $^{123}\text{I}$ および $^{133}\text{Xe}$ からなる群より選択される請求項7記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

9.  $\gamma$ 線放出核種が $^{99m}\text{Tc}$ および $^{123}\text{I}$ からなる群より選択される請求項7記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

10. 標識が陽電子放出核種である請求項4ないし6のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

11. 陽電子放出核種が $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ および $^{18}\text{F}$ からなる群より選択される請求項10記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

12. 陽電子放出核種が $^{18}\text{F}$ である請求項10記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物。

13. 請求項1ないし12のいずれかに記載の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物および医薬上許容される担体を含む、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物。

14.  $^{99m}\text{Tc}$ または $^{123}\text{I}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を含む請求項13記載の組成物。

15.  $^{18}\text{F}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を含む請求項13記載の組成物。

16. 請求項1ないし12のいずれかに記載の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む、アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用キット。

17.  $^{99m}\text{Tc}$ または $^{123}\text{I}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む請求項16記載のキット。

18.  $^{18}\text{F}$ で標識されたN-039、BF-064およびSA-215からなる群より選択される化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む請求項16記載のキット。



19. アミロイドが蓄積する疾患の画像診断用組成物またはキットを製造するための、請求項1ないし12のいずれかに記載の化合物またはその塩もしくは溶媒和物の使用。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02204

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl <sup>7</sup> C07C211/53, C07C251/24, C07C245/08, C07C309/46, C07C309/88, C07C331/28, C07C275/40, C07C251/22, C07C321/28, C07D213/38, C07D215/12, C07D221/10, C07D213/76, C07D239/26, A61K51/04 // C07M5:00, A61K100:10, A61K100:20, A61K100:02, A61K100:00, A61K123:00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl <sup>7</sup> C07C211/53, C07C251/24, C07C245/08, C07C309/46, C07C309/88, C07C331/28, C07C275/40, C07C251/22, C07C321/28, C07D213/38, C07D215/12, C07D221/10, C07D213/76, C07D239/26, A61K51/04// C07M5:00, A61K100:10, A61K100:20, A61K100:02, A61K100:00, A61K123:00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN) , REGISTRY (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 287909, A1 (SALUTAR, INC.), 26 October, 1988 (26.10.88), & JP, 63-290858, A & US, 4933156, A	1-19
X	WO, 98/40071, A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION), 17 September, 1998 (17.09.98), & EP, 1007048, A1	1-19
X	WO, 99/24394, A2 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH), 20 May, 1999 (20.05.99), & EP, 1028941, A2	1-19
X	EP, 290133, A2 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING CO.), 09 November, 1988 (09.11.88), & JP, 63-273602, A & US, 5545676, A	1-12
X	ATTINA, Marina et al., "Labeled aryl fluorides from the nucleophilic displacement of activated nitro groups by fluoride-18 ion", J. Labelled Compd. Radiopharm., 1983, Vol.20, No.4, p.501-514	1-12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 August, 2001 (14.08.01)		Date of mailing of the international search report 14 August, 2001 (14.08.01)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/02204

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 155551, A1 (MITSUBISHI CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED), 25 September, 1985 (25.09.85) & JP, 61-171440, A, esp., cis-stilbene, trans-stilbene	1

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>7</sup> C07C211/53, C07C251/24, C07C245/08, C07C309/46, C07C309/88, C07C331/28, C07C275/40, C07C251/22, C07C321/28, C07D213/38, C07D215/12, C07D221/10, C07D213/76, C07D239/26, A61K51/04 // C07M5:00, A61K100:10, A61K100:20, A61K100:02, A61K100:00, A61K123:00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.<sup>7</sup> C07C211/53, C07C251/24, C07C245/08, C07C309/46, C07C309/88, C07C331/28, C07C275/40, C07C251/22, C07C321/28, C07D213/38, C07D215/12, C07D221/10, C07D213/76, C07D239/26, A61K51/04 // C07M5:00, A61K100:10, A61K100:20, A61K100:02, A61K100:00, A61K123:00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP 287909 A1 (SALUTAR, INC.) 26. 10月. 1988 (26. 10. 88) &JP 63-290858 A &US 4933156 A	1-19
X	WO 98/40071 A1 (THE GENERAL HOSPITAL CORPORATION) 17. 9月. 1998 (17. 09. 98) &EP 1007048 A1	1-19
X	WO 99/24394 A2 (UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 20. 5月. 1999 (20. 05. 99) &EP 1028941 A2	1-19

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日  
14. 08. 01

国際調査報告の発送日  
14.08.01

国際調査機関の名称及びあて先  
日本国特許庁 (ISA/J P)  
郵便番号100-8915  
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)  
本堂 裕司  
電話番号 03-3581-1101 内線 3443

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP 290133 A2 (MINNESOTA MINING AND MANUFACTURING COMPANY) 9.11月.1988(09.11.88) &JP 63-273602 A &US 5545676 A	1-12
X	ATTINA, Marina et al., "Labeled aryl fluorides from the nucleophilic displacement of activated nitro groups by fluoride-18 ion", J. Labelled Compd. Radiopharm., 1983, Vol.20 No.4, p.501-514	1-12
X	EP 155551 A1 (MITSUBISHI CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED) 25.9月.1985(25.09.85) &JP 61-171440 A 特にcis-stilbene, trans-stilbene	1